Über den Abbau gesättigter Fettsäuren durch Schimmelpilze

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt
im November 1938
von
Gustav Hermann G e i s t
aus Baden-Baden.

Berichterstatter: Professor Dr. B. B l e y e r
Tag der mündlichen Prüfung: 20. Dezember 1938.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Zur Chemie der Ketonranzigkeit.

II. Mitteilung:

Über die Bildung von Methylketonen aus β-Oxyfettsäuren durch Penicillium glaucum [1].

Von

H. Thaler und **G. Geist.**

(Universitätsinstitut und Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie in München.)

(Eingegangen am 28. Juli 1939.)

Die Frage nach den chemischen Vorgängen bei der Entstehung der Methylketone, die als Träger des bezeichnenden Geruches „keton"- oder „parfümranzigen" Kokos- und Palmkernfettes von *A. Haller* und *Lassieur* [2] zuerst nachgewiesen worden waren, erhob sich verhältnismäßig spät. Man hatte zwar festgestellt, daß diese Stoffe durch die Lebenstätigkeit von Schimmelpilzen sich entwickeln und daß vor allem die Fettsäuren geringer bis mittlerer Molekülgröße als Ausgangsstoffe in Betracht kommen, über die Art und Weise der sich abspielenden Umsetzungen machte man sich aber zunächst keine näheren Vorstellungen.

Erst als *Dakin* [3] über Versuche berichtete, die eine aus gesättigten Fettsäuren auf rein chemischem Wege erfolgende Ketonbildung zum Gegenstand hatten, welche mit der biochemischen eine gewisse Ähnlichkeit zu haben schien, begann man dieses Problem aufzugreifen. Beim Erhitzen einer wässerigen Lösung von Ammoniumsalzen der Fettsäuren in Gegenwart von Wasserstoffperoxyd und geringer Mengen Ammoniak hatte *Dakin* Methylketone, wenn auch nur in einer Ausbeute von etwa 5 % erhalten.

Diese auf rein chemischem Wege verlaufende Oxydation von Fettsäuren beim „*Dakin*schen Abbau" wurde von *M. Stärkle* [4] zur Erklärung der Ketonbildung durch Schimmelpilze herangezogen. Es sollten in beiden Fällen aus den Ammoniumsalzen durch Abspaltung von Ammoniak und Kohlendioxyd unter gleichzeitiger Einwirkung von Sauerstoff sekundäre Alkohole entstehen, welche dann zu Methyl-

[1] Ausgeführt mit Mitteln des Forschungsdienstes, Landwirtschaftliche Gewerbeforschung. — [2] C. r. Acad. Sc. **150**, 1013, 1910. — [3] J. of biol. Chem. **4**, 227, 1908; **6**, 373, 1909; J. Amer. chem. Soc. **44**, 41, 1910. — [4] Diese Zeitschr. **151**, 371, 1924.

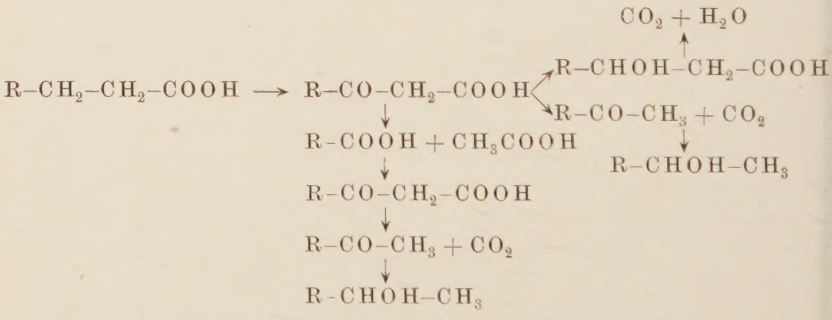
ketonen weiter oxydiert werden konnten. Das Reaktionsgeschehen stellte er in dem folgenden Schema dar:

$$R{-}CH_2{-}CH_2{-}COONH_4 \xrightarrow{+O_2} R{-}CHOH{-}CH_3 + CO_2 + NH_3;$$

$$R{-}CHOH{-}CH_3 \xrightarrow{+O_2} R{-}CO{-}CH_3 + H_2O.$$

Daneben zog *M. Stärkle* aber auch die sofortige Oxydation des fettsauren Ammoniaks zum Salz einer β-Ketosäure, ohne die Zwischenstufen der β-Oxysäuren und des sekundären Alkohols, in Betracht.

Die Frage der Entstehung von Methylketonen aus gesättigten Fettsäuren wurde einige Jahre später von *O. Acklin* und *W. Schneider* [1] wieder aufgegriffen. Ihre Untersuchungen, die unter anderem auch die Befunde von *M. Stärkle* über den Ketonabbau der gesättigten Fettsäuren verschiedener Molekülgröße bestätigten, hatten ein wichtiges Ergebnis: Bei den mit β-Oxybuttersäure und β-Oxycapronsäure angestellten Versuchen konnte eine Bildung von Aceton bzw. von Methylpropylketon nicht nachgewiesen werden. Die Autoren nahmen aus diesem Grunde an, daß die β-Oxyfettsäuren nicht als Vorstufen bei der biochemischen Entstehung der Methylketone anzusehen sind. Beim oxydativen Abbau der gesättigten Fettsäuren zu Ketonen sollten die ersteren sofort in die Ketosäuren übergehen und aus diesen durch Decarboxylierung die entsprechenden Methylketone entstehen. Auf Grund ihrer Anschauungen gelangten sie zu dem folgenden Reaktionsschema:



Eine Bestätigung ihres Abbauschemas, in welchem die Methylketone als Zwischenstufen und nicht als Endprodukte einer Folge von Reaktionen auftreten, erblickten *O. Acklin* und *W. Schneider* in den Feststellungen, die *P. Woringer* [2] bei Versuchen über das Verhalten von β-Oxysäuren im tierischen Organismus machte. Da es sich hierbei zeigte, daß manche von diesen vom tierischen Körper schwerer angegriffen wurden als die ihnen zugrunde liegenden Fettsäuren, so schloß

[1] Diese Zeitschr. **204**, 253, 1929. — [2] Bull. Soc. Chim. biol. **311**, 3, 1921.

auch er, daß die β-Oxysäuren nicht durch Oxydation aus den Fettsäuren entstünden, sondern erst in zweiter Linie durch Reduktion der β-Ketosäuren. Diese letzteren sollten also die erste Oxydationsstufe der Fettsäuren darstellen.

Beinahe zur gleichen Zeit gelangte auch *W. N. Stockoe* [1] zu einem Abbauschema, welches demjenigen von *O. Acklin* und *W. Schneider* ähnlich ist.

Zu ganz anderen Ergebnissen kamen jedoch *P. D. Coppock, V. Subramaniam* und *T. K. Walker* [2], die im Gegensatz zu *O. Acklin* und *W. Schneider* beim Abbau von Calciumbutyrat durch Schimmelpilze neben β-Oxybuttersäure auch Aceton nachweisen konnten und folgendes Abbauschema aufstellten:

Buttersäure → β-Oxybuttersäure → Acetessigsäure → Aceton.

Eine Bestätigung dieses Schemas kann auch aus einer früheren Arbeit von *T. K. Walker* und *P. D. Coppock* [3] entnommen werden. Bei Versuchen mit Calciumpropionat wurde nämlich beobachtet, daß sich Milchsäure stets früher als Brenztraubensäure nachweisen ließ. Beim Abbau der Buttersäure müßte in ähnlicher Weise zuerst die β-Oxybuttersäure und erst nach dieser die Acetessigsäure auftreten.

Die Frage nach der Art und Weise der Bildung von Methylketonen aus gesättigten Fettsäuren erscheint also durchaus ungeklärt. Eines steht fest: nur die Fettsäuren geringer und mittlerer Molekülgröße von der Buttersäure [4] an bis zur Myristinsäure werden durch Schimmelpilze unter Methylketonbildung abgebaut. Über welche Zwischenstufen dieser Vorgang verläuft, ist nicht bekannt.

Soweit wir über den Abbau aliphatischer Ketten im tierischen Körper oder durch Kleinlebewesen bislang unterrichtet sind, kommt der Annahme von *P. D. Coppock, V. Subramaniam* und *T. K. Walker* die größte Wahrscheinlichkeit zu.

Nach den Untersuchungen von *F. Knoop* über den Abbau gesättigter Fettsäuren im Tierkörper ist es bekannt, daß das β-Kohlenstoffatom den Angriffspunkt für die Oxydation darstellt. Das Ergebnis ist dann schließlich eine β-Ketosäure, die der Spaltung in Essigsäure und eine niedrigere Fettsäure unterliegt. Es liegt nahe, die β-Oxydation nach *F. Knoop* auch auf die Entstehung der Ketone anzuwenden. Über den Weg, welchen die Reaktion möglicherweise einschlagen kann, finden sich Hinweise in den Untersuchungen von *H. Wieland* [5] über den Verlauf der Oxydationsvorgänge. Beim oxydativen Abbau der Bernsteinsäure

---

[1] Biochem. J. **22**, 80, 1928. — [2] J. chem. Soc. London **1928**, 1422. — [3] Ebenda **1928**, 803. — [4] *H. Thaler* u. *G. Geist*, diese Zeitschr. **302**, 121, 1939. — [5] *H. Wieland*, Über den Verlauf der Oxydationsvorgänge, Verlag *F. Enke*, Stuttgart 1933.

wird zuerst durch Dehydrierung eine ungesättigte Säure (Fumarsäure) gebildet, aus welcher durch Anlagerung von Wasser an die Doppelbindung eine Oxysäure (Äpfelsäure) entsteht. Durch nochmalige Dehydrierung geht diese in eine Ketosäure, die Oxalessigsäure über, welche unter Abspaltung von Kohlendioxyd Brenztraubensäure liefert.

Will man diesen Reaktionsmechanismus auf den Abbau gesättigter Fettsäuren durch Schimmelpilze übertragen, so sollte man folgenden Reaktionsverlauf erwarten:

$$
\begin{array}{l}
R{-}CH_2{-}CH_2{-}COOH \\
\qquad\downarrow \\
R{-}CH{=}CH{-}COOH \\
\qquad\downarrow + H_2O \\
R{-}CHOH{-}CH_2{-}COOH \\
\qquad\downarrow - H_2 \\
R{-}CO{-}CH_2{-}COOH \\
\qquad\downarrow - CO_2 \\
R{-}CO{-}CH_3
\end{array}
$$

Im Widerspruch zu diesen Annahmen stehen aber vor allem die Ergebnisse von *O. Acklin* und *W. Schneider*, welche bei ihren Versuchen mit β-Oxybuttersäure und β-Oxycapronsäure das Auftreten von Ketonen nicht feststellen konnten. Damit scheinen die β-Oxysäuren als Zwischenprodukte des Reaktionsmechanismus der Ketonranzigkeit auszuscheiden.

Zwei Möglichkeiten allerdings lassen die Vermutung zu, daß die fehlende Ketonbildung bei der β-Oxybuttersäure und bei der β-Oxycapronsäure ihre Ursache nicht in der Unfähigkeit der Schimmelpilze hat, sie in der entsprechenden Weise zu verarbeiten, sondern durch andere äußere Umstände bedingt ist. Von *A. Spiekermann* [1] wie auch von *M. Stärkle* [2] ist gezeigt worden, daß die niedrigmolekularen Fettsäuren eine gewisse Giftigkeit für Schimmelpilze besitzen und es ist nicht ausgeschlossen, daß die Wirksamkeit bei den durch größere Wasserlöslichkeit ausgezeichneten Oxysäuren gesteigert ist, so daß hierin der Grund der fehlenden Ketonbildung liegen kann. Weiterhin wurden von *O. Acklin* und *W. Schneider* [3] zu den von ihnen benutzten Nährböden außer den Fett- bzw. Oxysäuren auch andere organische Stoffe, wie Pepton, Gelatine, Agar zugesetzt, so daß vielleicht die Schimmelpilze aus diesen für sie leicht angreifbaren Verbindungen ihren Kohlenstoffbedarf deckten und die Säuren unbeachtet ließen.

[1] Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel **23**, 305, 1912. — [2] Diese Zeitschr. **151**, 371, 1924. — [3] Ebenda **204**, 253, 1929.

Nachdem durch die Salicylaldehyd-Reaktion von *K. Täufel* und *H. Thaler*[1] der Nachweis der Methylketone verbessert und verfeinert worden war, erschien es aussichtsreich, erneut Untersuchungen über den Reaktionsmechanismus der Ketonranzigkeit anzustellen. Die größte Wahrscheinlichkeit hatte von vornherein der im vorhergehenden aufgezeigte Weg der β-Oxydation nach *F. Knoop* in den Stufen des von *H. Wieland* gefundenen Abbaues der Bernsteinsäure.

Bei den geringen Mengen von Ketonen, welche von den Schimmelpilzen gebildet werden, waren die Aussichten der Auffindung von Zwischenprodukten ziemlich gering. Auch war selbst beim Gelingen solcher Versuche noch keine Entscheidung zu erwarten, da ja z. B. von *P. D. Coppock, V. Subramaniam* und *T. K. Walker*[2] β-Oxybuttersäure gefunden, von *O. Acklin* und *W. Schneider* hingegen festgestellt worden war, daß diese von den Schimmelpilzen nicht unter Ketonbildung angegriffen wurde.

Aus diesen Gründen sollte versucht werden, einen Einblick in das Geschehen dadurch zu bekommen, daß man den Pilzen jene Säuren als Nährstoffe gab, welche als Zwischenstufen des Schemas von *H. Wieland* in Betracht kommen, z. B. β-Oxysäuren. Da die niederen Fettsäuren aber, wie erwähnt, eine gewisse Giftigkeit zu besitzen scheinen, welche bei den höheren abnimmt, so war es möglich, daß bei Verwendung von z. B. β-Oxycaprinsäure eher eine Ketonbildung festzustellen war. Um eine schädliche Wirkung der freien Säuren auszuschließen, war es zweckmäßig, sie in Form ihrer Ammonium- oder Alkalisalze zu verwenden. Damit die Schimmelpilze endlich gezwungen waren, ihren Kohlenstoffbedarf einzig und allein aus den betreffenden Säuren zu decken, durften die Nährböden keine anderen Kohlenstoffquellen enthalten.

Auch die Wasserstoffionenkonzentration des Nährbodens erforderte Berücksichtigung, hatten doch frühere Versuche ergeben, daß die Ketonbildung bei den gesättigten Fettsäuren sehr stark vom p_H der Lösung abhängt.

Die Darstellung und Vorbereitung der verwendeten Säuren.

Da nur die gesättigten Fettsäuren von der Buttersäure an bis zur Myristinsäure zur Ketonbildung befähigt sind, wurden zu den Versuchen β-Oxybuttersäure, β-Oxycapronsäure, β-Oxycaprinsäure und β-Oxymyristinsäure ausgewählt. Da einige der zu prüfenden Säuren noch nicht

---

[1] Chem. Ztg. **56**, 265, 1932; Zeitschr. f. physiol. Chem. **212**, 256, 1932; *K. Täufel, H. Thaler* u. *O. Bauer*, Zeitschr. f. Unters. d. Lebensmittel **69**, 401, 1935; *K. Täufel, H. Thaler* u. *H. Hohner*, ebenda **74**, 119, 1937. — [2] J. chem. Soc. London **1928**, 1422.

bekannt waren, soll zunächst kurz über die Herstellung der Oxysäuren berichtet werden. Hierzu standen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung, wie z. B. die Reduktion der entsprechenden Ketosäuren mit Natriumamalgam. Die Darstellung derselben bot ziemliche Schwierigkeiten, so daß schließlich als am aussichtsreichsten die auf anderen Gebieten der organischen Chemie mit großem Erfolg angewendete Synthese nach *S. Reformatzki* [1] versucht wurde. Wegleitend war dabei die bereits von *V. J. Harding* und *C. Weizmann* [2] durchgeführte Darstellung der β-Oxypelargonsäure aus Heptylaldehyd, Bromessigester und Zink. Es gelang auf diese Weise die β-Oxycapronsäure, die β-Oxycaprinsäure und β-Oxymyristinsäure darzustellen.

1. Die Darstellung der β-Oxycaprinsäure.

30 g Octylaldehyd und 40 g Bromessigester wurden in einem Kolben mit eingeschliffenem Rückflußkühler in 140 ccm wasserfreiem Benzol gelöst und zu der Mischung 16,5 g Zink zugegeben. Beim Erwärmen auf dem Wasserbad trat sehr bald Reaktion ein, die — falls sie zu stürmisch zu werden drohte — durch Eintauchen des Gefäßes in Eiswasser gemildert wurde. Nach Beendigung der Reaktion wurde das Gemisch 3 Stunden auf dem Wasserbad am Rückflußkühler erhitzt. Die entstandene Lösung goß man auf Eis und setzte sodann konzentrierte Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion zu. Die Benzolschicht wurde im Scheidetrichter abgetrennt, mehrmals mit Wasser gewaschen bis dieses neutral reagierte und mit Natriumsulfat getrocknet. Das Benzol wurde abgedampft und der Rückstand im Vakuum bei 18 mm Quecksilberdruck destilliert, wobei die Hauptmenge zwischen 122 bis 138° überging. Bei der darauffolgenden Destillation wurde der beim gleichen Druck bei 130 bis 142° siedende Anteil gesondert aufgefangen, dessen Gewicht 33 g betrug. Die Vorläufe der beiden Destillationen vereinigte man und verarbeitete sie in der gleichen Weise wie die Hauptmenge weiter. Diese wurde nun mit 50 ccm 2-N alkoholischer Kalilauge versetzt und $^1/_2$ Stunde auf dem Wasserbad am Rückflußkühler gekocht. Dann stellte man den Kolben in Eiswasser, wobei sich das Kaliumsalz als gelblicher Brei abschied, der auf einer Nutsche abgesaugt, mit kaltem Alkohol angerieben und nochmals abgesaugt wurde. Das erhaltene weiße Kaliumsalz der β-Oxycaprinsäure wurde in wenig Wasser gelöst, die Lösung in Eis gestellt und nach einiger Zeit mit kalter verdünnter (15%iger) Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion versetzt, wobei die freie Säure ausfiel. Diese wurde abgesaugt und im Vakuumexsikkator über Phosphorpentoxyd getrocknet.

Die Produkte aus Vorlauf und Hauptfraktion wurden getrennt umkristallisiert. Hierzu löste man sie in siedendem Petroläther und filtrierte die Flüssigkeit. Bei geringer Abkühlung schon schied sich die Säure aus. Bei Zimmertemperatur wurde längere Zeit stehengelassen und sodann in Eis gestellt, wobei man die β-Oxycaprinsäure in Form weißer, nadelförmiger Kristalle, die an Schneekristalle erinnerten, erhielt. Im Vakuumexsikkator wurde die Säure über Paraffin von den letzten Spuren Petroläther

[1] J. Russ. phys.-chem. Ges. **33**, 158, 1901. — [2] J. chem. Soc. London **97**, 302, 1910.

befreit. Von den aus Vorlauf und Hauptfraktion erhaltenen Anteilen bestimmte man den Schmelzpunkt zu 53° bis 54°. Die Ausbeute betrug 19,3 g, das sind 26,3 % der berechneten Menge.

Durch Titration mit n/10 alkoholischer Kalilauge ermittelte man unter Verwendung von Phenolphthalein als Indikator das Molekulargewicht der Säure:

0,1353 g Subst. verbr. 0,0400 g KOH; Mol.-Gew. gef. 189,8; ber. 188,2.

Eine Mikroverbrennung hatte folgendes Ergebnis:

4,042 mg Subst.; 9,379 mg CO_2; 3,826 mg H_2O.

Ber. ..... C = 63,77 % H = 10,71 %
Gef. ..... C = 63,28 % H = 10,59 %

2. Die Darstellung von β-oxycapronsaurem Natrium.

Die β-Oxycapronsäure stellte man auf ähnliche Art wie die β-Oxycaprinsäure her: 45 g Butylaldehyd, 95 g Bromessigester und 37 g Zink wurden zur Reaktion gebracht und nach Beendigung derselben noch 2 Stunden auf dem Wasserbad am Rückflußkühler erhitzt. Die weitere Verarbeitung erfolgte in der gleichen Weise wie bei der Darstellung der β-Oxycaprinsäure. Bei der Destillation wurde der zwischen 105 bis 196° bei 33 mm Quecksilberdruck übergehende Anteil aufgefangen, dessen Menge 21,5 g betrug. Die Spaltung des Esters erfolgte wegen der beträchtlichen Löslichkeit der Alkalisalze der β-Oxycapronsäure in Wasser und in wasserhaltigem Alkohol mittels einer Natriumäthylatlösung, die aus 100 ccm absolutem Alkohol und 3,5 g Natrium hergestellt worden war. Bei Zugabe derselben schied sich sofort das Natriumsalz der β-Oxycapronsäure aus. Hierauf kochte man 10 Minuten am Rückflußkühler, wobei sich nur geringe Mengen lösten. Nach dem Erkalten wurde das Salz nochmals abgesaugt, weil die Substanz gelblich gefärbt war und einen eigenartigen Geruch besaß. Das über Nacht auf einem Tonteller getrocknete Salz rührte man am anderen Tage erneut mit absolutem Alkohol und darauf mit Äther an und saugte die Flüssigkeit jedesmal scharf ab. Im Exsikkator wurde das Präparat über Calciumchlorid und Paraffin getrocknet. Man erhielt 13 g reines Natriumoxycapronat, entsprechend 11,1 % der berechneten Menge.

Eine Mikroverbrennung lieferte folgendes Ergebnis:

4,391 mg Subst.; 7,241 mg CO_2; 2,840 mg H_2O.

Ber. ..... C = 46,73 %, H = 7,19 %
Gef. ..... C = 44,97 %, H = 7,24 %

3. Die Darstellung der β-Oxymyristinsäure.

Nachdem sich die *Reformatzki*sche Synthese zur Darstellung der β-Oxycaprin- und der β-Oxycapronsäure gut bewährt hatte, wurde versucht, auch die β-Oxymyristinsäure nach diesem Verfahren zu erhalten.

Hierzu wurden 50 g Laurinaldehyd, 45 g Bromessigester und 18,5 g Zink verwendet. Die Reaktion war diesmal schwieriger in Gang zu bringen als bei den niederen Aldehyden und setzte beim Erwärmen auf dem Wasserbad nochmals ein. Das Reaktionsgemisch war olivgrün gefärbt. Bei der Destillation wurden die bei 16 mm Quecksilberdruck zwischen 177 und 195° übergehenden Anteile aufgefangen, die in der gleichen Weise, wie das bei

der Darstellung der β-Oxycaprinsäure beschrieben worden war, weiter verarbeitet wurden. Die Ausbeute an reiner β-Oxymyristinsäure betrug 7,1 g, entsprechend 10,7 % der berechneten Menge. Der Schmelzpunkt der Säure lag bei 72 bis 73°.

Das Molekulargewicht der Säure ermittelte man durch Titration mit n/10 alkoholischer Kalilauge:

0,1578 g Subst. verbr. 0,0362 g KOH; Mol.-Gew. gef. 244,29; ber. 244,36.

Die Mikroverbrennung der Säure hatte folgendes Ergebnis:

3,045 mg Subst.; 7,692 mg CO_2; 3,069 mg H_2O.

Ber. ..... C = 68,79 %, H = 11,55 %
Gef. ..... C = 68,98 %, H = 11,28 %

4. Die Darstellung von β-oxybuttersaurem Natrium.

Zu den Versuchen wurde, da die freie Säure nur schwer zu reinigen ist, das Natriumsalz der β-Oxybuttersäure verwendet, das durch Reduktion von Acetessigester nach *J. Wislicenus*[1] mittels Natriumamalgam hergestellt worden war. Das Salz wurde wiederholt aus Alkohol umkristallisiert.

Die Versuchsanordnung.

Die zu den Versuchen verwendete Rasse von Penicillium glaucum war die gleiche, die auch schon zum Abbau der gesättigten Fettsäuren gedient hatte[2]. Auch der damals benutzte anorganische Nährboden, der sich gut bewährt hatte, wurde beibehalten. Die Anordnung der einzelnen Versuchsreihen geschah ebenfalls in der schon in der vorhergehenden Mitteilung[2] beschriebenen Weise.

Die β-Oxycaprin- und die β-Oxymyristinsäure wurden als freie Säuren, die β-Oxybutter- und die β-Oxycapronsäure als Natriumsalze der Nährlösung zugesetzt. In jedem Falle stellte man wiederum zwei Parallelversuchsreihen an. Nach bestimmten Zeiten wurde der Ketongehalt mittels der Salicylaldehydreaktion von *K. Täufel* und *H. Thaler* nach dem Verfahren von *K. Täufel, H. Thaler* und *H. Hohner*[3] ermittelt.

Ergebnisse der Abbauversuche.

Mit Rücksicht auf die Möglichkeit, daß β-Oxybuttersäure und β-Oxycapronsäure unter Umständen eine solche Giftwirkung besitzen, daß jegliche Ketonbildung unterdrückt wird, wurden zunächst Versuche mit β-Oxycaprinsäure und hierauf mit β-Oxymyristinsäure, später dann auch mit β-Oxycapron- und β-Oxybuttersäure unternommen. Ferner hatte sich bei den früheren Untersuchungen[4] im Einklang mit den Befunden von *M. Stärkle, O. Acklin* und *W. Schneider*, sowie von

[1] Liebigs Ann. **149**, 207, 1896. — [2] Vgl. *H. Thaler* u. *G. Geist*, diese Zeitschr. **302**, 121, 1939. — [3] Zeitschr. f. Unters. d. Lebensmittel **74**, 119, 1937. — [4] *H. Thaler* u. *G. Geist*, diese Zeitschr. **302**, 121, 1939.

K. Täufel, H. Thaler und *M. Löweneck* [1] ein starker Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Ketonbildung ergeben. Deshalb wurden auch diesmal Versuchsreihen bei verschiedenem p_H angestellt. Über die Ergebnisse soll im folgenden berichtet werden.

1. β-Oxycaprinsäure.

Bei den Versuchen wurden jeweils 0,05 g der freien β-Oxycaprinsäure dem Nährboden zugesetzt.

Aus den in der Tabelle 1 zusammengestellten Ergebnissen ist einwandfrei zu entnehmen, daß die β-Oxycaprinsäure von Penicillium glaucum unter Ketonbildung abgebaut wird. Gegenüber der Laurinsäure, welcher die β-Oxycaprinsäure in ihrer Molekülgröße nahesteht, sind jedoch bemerkenswerte Unterschiede in der Art der Ketonbildung festzustellen [2].

Tabelle I.

Die Bildung von Methylketon aus β-Oxycaprinsäure.

	Gebildete Ketonmenge in γ nach Tagen								
	1	2	3	4	5	6	7	8	11
				p_H 3.					
1. Versuch...	0	45	—	78	38	1072	—	30	—
2. „ ...	24	444	—	608	552	1688	—	96	—
Mittelwert:	12	245	—	343	275	1380	—	63	—
				p_H 6.					
1. Versuch...	152	290	228	56	8	0	—	0	0
2. „ ...	318	1640	406	968	12	152	—	0	12
Mittelwert:	235	965	317	512	10	76	—	0	6
				p_H 7.					
1. Versuch...	32	46	—	456	540	1108	4560	968	—
2. „ ...	88	111	—	1680	1272	1240	8640	1064	—
Mittelwert:	60	79	—	1068	906	1174	6100	1016	—
				p_H 8.					
1. Versuch...	0	46	130	20	8	—	166	—	—
2. „ ...	50	95	212	228	412	—	1724	—	—
Mittelwert:	25	70	171	124	210	—	945	—	—
				p_H 8,5.					
1. Versuch...	6	0	0	0	—	39	0	0	—
2. „ ...	13	0	0	0	—	123	39	0	—
Mittelwert:	10	0	0	0	—	81	20	0	—

Als erstes ist der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration zu nennen. Wenn bei der Laurinsäure die stärkste Ketonbildung bei p_H 3

[1] Fettchem. Umschau **43**, 1, 1936. — [2] *H. Thaler* u. *G. Geist*, diese Zeitschr. **302**, 121, 1939.

eintrat, so war sie bei der β-Oxycaprinsäure hier zwar ebenfalls ziemlich bedeutend, aber doch lange nicht am größten. Bei p_H 6 war die entstandene Ketonmenge etwas geringer, bei p_H 7 am 7. Tage aber erreichte sie plötzlich einen ganz außerordentlich hohen Betrag. Auch bei p_H 8 waren immer noch bedeutende Mengen von Keton vorhanden, während bei p_H 8,5, wie es auch bei der Laurinsäure der Fall war, die Bildung des Methylketons nahezu aufhörte.

Was die Mengen an Keton anlangt, die bei den verschiedenen Versuchen entstanden, so fällt vor allen Dingen das außerordentliche starke Ansteigen der Kurve bei p_H 7 auf. Die bei dieser Wasserstoffionenkonzentration aus der β-Oxycaprinsäure gebildete Ketonmenge übertrifft die aus Laurinsäure im besten Falle erhaltene Ausbeute um ein beträchtliches. Von den zum Versuch verwendeten 0,05 g der β-Oxycaprinsäure sind in der einen Versuchsreihe 4,56 mg, in der anderen sogar 8,64 mg Keton geliefert worden, was einer Ausbeute von 12 bzw. 23 % entspricht. Dieser Befund übersteigt bei weitem sowohl die beim *Dakin*schen Abbau zu erreichenden Ausbeuten, welche zu rund 5 % angegeben werden, wie auch die Ketonmengen, welche im allgemeinen von anderen Bearbeitern dieser Frage erhalten wurden.

Auch bei den anderen p_H-Stufen war die erzielte Ketonausbeute, verglichen mit der aus der Laurinsäure erhaltenen, bedeutend größer, trotzdem gerade diese Säure der Ketonranzigkeit leicht unterliegt. So wurde bei p_H 3 von der β-Oxycaprinsäure etwas mehr als das Doppelte, bei p_H 6 etwa 80 % mehr Keton geliefert, als von der Laurinsäure. Die Oxycaprinsäure wird demnach sogar in höherem Maße als eine der nahestehenden gesättigten Säuren unter Ketonbildung abgebaut. Ein deutlicher Unterschied gegenüber dem Verhalten der gesättigten Fettsäuren zeigt sich auch in der Zeit der Bildung der größten Ketonmenge, die bei der β-Oxycaprinsäure sich erst verhältnismäßig spät entwickelte. Bei den anderen Oxysäuren war das zum Teil noch stärker ausgeprägt, worauf später eingegangen werden soll.

In gleicher Weise, wie es schon früher bei der Laurinsäure, der Myristinsäure und der Buttersäure beobachtet worden war [1], verlief die Ketonbildung auch bei der β-Oxycaprinsäure „zickzackförmig". Besonders deutlich ist diese Eigentümlichkeit bei den Versuchen bei p_H 3, p_H 6 und p_H 7, während im alkalischen Gebiet, genau wie bei den gesättigten Säuren, eine Änderung des Verlaufs der Kurve eintritt, dergestalt, daß diese annähernd gleichmäßig ansteigt.

Das Wachstum des Pilzes auf den β-oxycaprinsäurehaltigen Nährböden war stark von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig. Bei p_H 3 trat nur eine schwache Myceleutwicklung ein, bei p_H 6 jedoch

[1] *H. Thaler* u. *G. Geist*, diese Zeitschr. **302**, 121, 1939.

gedieh Penicillium vom 4. Tage an ausgezeichnet. Zugleich war ein deutlicher Rückgang der Ketonmenge zu bemerken. Bei p_H 7 war vom 4. Tage an sowohl das Pilzwachstum wie auch die erhaltene Ketonmenge beträchtlich. Ebenso war in einem der bei p_H 8 angestellten Versuche (am 7. Tage) neben starker Mycelentwicklung auch eine ziemliche Ketonbildung zu beobachten. Bei p_H 8,5 konnte nie eine Mycelbildung beobachtet werden, trotzdem war aber auch hier, wie bei den gesättigten Säuren Keton, allerdings nur in Spuren, festzustellen.

2. β-Oxymyristinsäure.

Bei früheren Versuchen[1] war bei Verwendung des gleichen Pilzstammes auch aus der Myristinsäure selbst Keton, allerdings nur in geringen Mengen, entstanden. Die freie Säure wurde in Mengen von 0,05 g den Versuchen zugesetzt. Wie zu erwarten war, unterlag auch die β-Oxymyristinsäure dem Abbau unter Methylketonbildung. Die Ergebnisse sind in der Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II.

Die Bildung von Methylketon aus β-Oxymyristinsäure.

	Gebildete Ketonmenge in γ nach Tagen								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
				p_H 3.					
1. Versuch...	0	46	0	—	0	0	0	0	—
2. „ ...	94	72	0		0	46	12	18	—
Mittelwert:	47	59	0	—	0	23	6	9	—
				p_H 6.					
1. Versuch...	0	—	—	51	45	28	142	123	142
2. „ ...	2		—	91	162	45	251	173	237
Mittelwert:	1	—	—	71	104	65	196	148	190
				p_H 7.					
1. Versuch...	0	0	—	0	0	—	0	14	—
2. „ ...	0	0	—	12	0	—	50	30	—
Mittelwert:	0	0	—	6	0	—	25	22	—

Im allgemeinen konnten die gleichen Beobachtungen gemacht werden wie bei den Versuchen mit β-Oxycaprinsäure. Auch diesmal wurden die größten Ketonmengen nicht, wie es bei den gesättigten Fettsäuren allgemein der Fall war, bei verhältnismäßig hoher Wasserstoffionenkonzentration, etwa bei p_H 3, sondern bei einem viel geringeren Säuregrad gebildet. Ein Unterschied gegenüber der β-Oxycaprinsäure ist zu bemerken: Während bei dieser nämlich die stärkste Ketonbildung

[1] *H. Thaler* u. *G. Geist*, diese Zeitschr. **302**, 121, 1939.

beim Neutralpunkt erfolgte und bei p_H 6 schon bedeutend geringer war, entstand diesmal am meisten Keton im ganz schwach sauren Gebiet (bei p_H 6). Im neutralen Nährboden und auch bei p_H 3 trat sehr viel weniger auf.

Im weiteren Gegensatz zu der β-Oxycaprinsäure, bei welcher die Ketonbildung die bei den gesättigten Fettsäuren ähnlicher Molekülgröße (Laurinsäure) beobachtete weit übertraf, waren die von der β-Oxymyristinsäure gelieferten Mengen geringer als die seinerzeit aus der Myristinsäure erhaltenen. Es wurden aus der β-Oxymyristinsäure unter den günstigsten Bedingungen, d. h. bei p_H 6, im Mittel nur $^2/_3$ der unter den ebenfalls günstigsten Bedingungen (p_H 3) aus der Myristinsäure entstandenen Ketonmenge erzeugt. Auffallend war auch hier die gegenüber der Myristinsäure erst verhältnismäßig spät einsetzende Ketonbildung. Der Verlauf der Kurven war wiederum der schon oft beschriebene „zickzackförmige", der allerdings bei p_H 3 und p_H 7 nur wenig, bei p_H 6 jedoch gut ausgeprägt erschien.

Die Entwicklung des Pilzmycels ging mit einer Verringerung der Ketonbildung einher. So wurde bei p_H 3 vom dritten Tage an ein sehr starkes Pilzwachstum festgestellt, während die Ketonmenge gering war. Bei p_H 6 konnte bei den ganzen Versuchen nur ein sehr spärliches Wachstum verzeichnet werden, Keton war aber reichlich vorhanden. Bei p_H 7 beobachtete man vom 5. Tage an eine kräftige Mycelentwicklung, wobei zugleich die Ketonmenge abnahm.

3. β-Oxycapronsäure.

Die im vorhergehenden beschriebenen Versuche hatten gezeigt, daß die β-Oxycaprin- und die β-Oxymyristinsäure, zum Teil mit einer überraschenden Stärke, zur Erzeugung von Methylketonen neigen. Es erhob sich die Frage, ob nicht bei den Versuchen von *O. Acklin* und *W. Schneider*, welche bei der β-Oxycapron- und der β-Oxybuttersäure das Auftreten von Ketonen nicht haben feststellen können, äußere Ursachen, z. B. die Verwendung von Pepton, Mannit und anderen Kohlenstoffquellen im Nährboden hemmend auf die Ketonbildung eingewirkt haben. Es wurden deshalb zunächst Versuche mit β-Oxycapronsäure, und zwar bei den gleichen Wasserstoffionenkonzentrationen, wie sie von den genannten Forschern verwendet worden waren, durchgeführt. Diese hatten bei p_H 6 und p_H 7 gearbeitet, was insofern günstig war, da ja nach den Befunden an der β-Oxycaprin- und der β-Oxymyristinsäure in diesem p_H-Bereich die stärkste Ketonbildung zu erwarten war. Um die mögliche Giftwirkung der Säure zu vermeiden, wurde das Natriumsalz verwendet, das man in einer Menge von 0,05 g den Versuchen zugab.

Die Tabelle III zeigt, daß auch aus der β-Oxycapronsäure Methylketon, vermutlich also Methylpropylketon entstand. Wie man schon bei den Versuchen mit β-Oxymyristinsäure beobachten konnte, war auch diesmal wieder die Ketonbildung beim Neutralpunkt schwächer als bei einem ganz geringen Säuregrad (p_H 6). Der Unterschied prägte sich hier sogar noch viel stärker aus. Erstaunlich hoch waren die unter den günstigsten Bedingungen gelieferten Ketonmengen, die bei p_H 6 am 4. Tage eine Ausbeute von rund 8,8 %, am 7. Tage sogar von 22,3 % bzw. von 16,2 % ergaben. Gleich wie bei den anderen β-Oxysäuren erfolgte die Bildung der größten Mengen von Keton verhältnismäßig spät. Der Verlauf der Kurven war wieder der übliche „zickzackförmige".

Tabelle III.

Die Bildung von Methylketon aus β-Oxycapronsäure.

	Gebildete Ketonmenge in γ nach Tagen									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	11
					p_H 6.					
1. Versuch...	194	—	—	884	836	672	2812	1588	318	—
2. „ ...	416	—	—	2452	1244	1652	6212	3992	3684	—
Mittelwert:	305	—	—	1688	1040	1162	4512	2790	2001	—
					p_H 7.					
1. Versuch...	14	0	—	—	175	—	152	114	—	470
2. „ ...	42	14	—	248	260	—	195	484	—	840
Mittelwert:	28	7	—	248	217	—	174	299	—	655

Das Wachstum des Pilzes war bei den Versuchen bei p_H 7 vom 4. Tage an recht gut, zugleich trat kräftige Ketonbildung auf. Bei p_H 6 war vom 6. Tage an ein schwächeres Wachstum festzustellen, wobei aber die Ketonmenge erheblich größer war als bei p_H 7.

4. β-Oxybuttersäure.

Auch bei den Versuchen mit β-Oxybuttersäure, bei denen der Nährlösung jeweils 0,05 g des Natriumsalzes zugesetzt wurden, war die Bildung von Keton, d. h. von Aceton festzustellen. Die Ergebnisse finden sich in der Tabelle IV.

Wiederum war die bei p_H 6 gelieferte Ketonmenge bedeutend größer als die bei p_H 7 entstandene, wenn auch der Unterschied diesmal nicht einen so hohen Betrag erreichte wie bei den Versuchen mit den übrigen Oxysäuren. Die Ketonbildung war bei der β-Oxybuttersäure überhaupt merklich schwächer, immerhin wurden unter günstigen Bedingungen rund 900 γ Aceton gebildet, was einer Ausbeute von etwa 3,9 % entspricht.

Tabelle IV. Die Bildung von Aceton aus β-Oxybuttersäure.

	Gebildete Acetonmenge in γ nach Tagen								
	1	2	3	4	5	6	7	8	11
				p_H 6.					
1. Versuch...	0	102	149	404	510	—	780	444	—
2. „ ...	18	120	300	432	600	—	928	760	—
Mittelwert:	9	111	225	418	545	—	854	602	—
				p_H 7.					
1. Versuch...	0	0	—	379	273	—	0	0	0
2. „ ...	3	129	—	463	383	—	0	11	0
Mittelwert:	2	65	—	421	328	—	0	6	0

Auch im Verlauf der Kurven ergab sich gegenüber der β-Oxycapronsäure insofern eine Änderung, als das bezeichnende „zickzackförmige" Ansteigen und Absinken der Ketonmenge viel weniger stark auftrat. Bei den Versuchen bei p_H 6 nahm diese vom 1. bis zum 7. Tage gleichmäßig zu, um sich dann jäh zu verringern. Die gleiche Beobachtung konnte man bei p_H 7 machen, nur war hier der Scheitelpunkt der Kurve schon am 4. Tage erreicht; die Acetonmenge nahm hierauf stark ab, bis nach 7 Tagen fast kein Aceton mehr nachzuweisen war.

Eine Mycelentwicklung trat bei p_H 7 auf dem β-oxybuttersäurehaltigen Nährboden im Gegensatz zu der β-Oxycapronsäure nicht auf, ein neuer Beweis für die von *K. Täufel, H. Thaler* und *M. Löwenick*[1] gemachte Beobachtung, daß Ketonbildung und Wachstum des Pilzes weitgehend unabhängig voneinander sind. Bei p_H 6 war das Pilzwachstum ziemlich gering.

Zusammenfassung.

Die beschriebenen Versuche mit β-Oxybutter-, β-Oxycapron-, β-Oxycaprin- und β-Oxymyristinsäure lassen erkennen, daß nicht nur die mittleren Glieder dieser Reihe, sondern auch, entgegen den Angaben von *O. Acklin* und *W. Schneider*, die niederen Vertreter derselben, wie β-Oxybuttersäure und β-Oxycapronsäure durch Schimmelpilze unter Methylketonbildung abgebaut werden können. Dabei erfolgt bei allen diesen β-Oxysäuren die Ketonbildung zum Teil sogar leichter und in viel größerem Ausmaße als aus den ihnen nahestehenden gesättigten Fettsäuren. Vor allen Dingen scheinen auch hier wieder die Säuren mittlerer Molekülgröße (β-Oxycaprinsäure) in besonderem Maße zur Ketonbildung befähigt zu sein.

Gegenüber dem Verhalten der gesättigten Fettsäuren zeigen sich aber in einigen Punkten merkliche Unterschiede. Während bei diesen die Entwicklung der größten Ketonmengen bei verhältnismäßig kräftig

[1] Fettchem. Umschau **43**, 1, 1936.

saurer Reaktion (p_H 3) des Nährbodens erfolgte, trat dies bei den β-Oxysäuren im ganz schwach sauren Gebiet (p_H 6), in einem Falle (β-Oxycaprinsäure) beim Neutralpunkt ein. Sowohl bei stärkeren Säuregraden wie auch zum alkalischen Gebiet hin verringerte sich die Ketonbildung recht schnell. Die Entwicklung der größten Ketonmenge, die sich bei den gesättigten Fettsäuren unter günstigsten Bedingungen in den ersten 4 Tagen vollzog, erfuhr bei den β-Oxysäuren eine Verzögerung um mehrere Tage. Die gelieferten Mengen waren dann allerdings manchmal ganz bedeutend größer. Bei der β-Oxycaprinsäure wurden Ausbeuten bis zu 12 und 23 %, bei der β-Oxycapronsäure bis zu 16,2 und 22,3 % erreicht.

Der Verlauf der Kurven zeigte, wie das auch bei den gesättigten Fettsäuren der Fall war, in der Regel ein starkes Ansteigen und eine darauf folgende Verminderung der Ketonmengen, so daß die Kurven die bezeichnende „Zickzackform" erhielten.

Die Tatsache, daß auch die β-Oxyfettsäuren geringer bis mittlerer Molekülgröße von Penicillium glaucum zu Methylketonen abgebaut werden können, ist vielleicht nicht allzu überraschend, da es an und für sich wohl unwahrscheinlich war, daß die Ketonbildung aus gesättigten Fettsäuren in einer von den bisher bekannten Reaktionsfolgen abweichenden Weise verlaufen sollte. Bei der Leichtigkeit, mit welcher die β-Oxysäuren der Ketonranzigkeit unterliegen, erscheint es als wahrscheinlich, daß sie als Zwischenstufe des Ketonabbaues der gesättigten Fettsäuren auftreten.

Weitere Versuche über das Verhalten ungesättigter und substituierter Fettsäuren sowie verschiedener anderer Verbindungen, die in ketonranzigen Fetten nachgewiesen wurden, sind im Gange.

Lebenslauf.

Am 4.März 1912 wurde ich als Sohn des Justizinspektors Karl Geist zu Baden-Baden geboren. Nach vierjährigem Besuch der Volksschule in Villingen im Schwarzwald trat ich in das Realgymnasium daselbst ein, welches ich am 24.Februar 1931 mit dem Zeugnis der Reife verließ.

Vom 1.April 1931 bis 1.April 1933 war ich als Apothekerpraktikant in der Friedrich-Apotheke in Bad Dürrheim tätig. Am 10.März 1933 bestand ich vor dem Prüfungsausschuss in Karlsruhe das Pharmazeutische Vorexamen.

Im Anschluss hieran begann ich das Studium der Pharmazie an der Universität Freiburg i.Br. Ab Wintersemester 1933/34 bezog ich die Universität München, woselbst ich alle meine folgenden Studien ausführte. Am 28. März 1935 bestand ich das pharmazeutische Staatsexamen.

Im Sommersemester 1935 studierte ich Chemie, während ich mich im Wintersemester 1935/36 medizinischen Studien widmete. Ab Sommersemester 1936 arbeitete ich in der organischen Abteilung des Chemischen Laboratoriums des Staates. Meine chemischen Studien schloss ich mit dem zweiten chemischen Verbandsexamen ab, das ich am 16.April 1937 ablegte.

Hierauf begann ich im Institut für Pharmazeutische- und Lebensmittelchemie der Universität München unter Leitung von Herrn Dr.phil.habil. H. T h a l e r mit meiner Dissertationsarbeit.